

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

10 REC'D REC'D PTO 4:2 AUG 2004

(43) 国際公開日  
2003年7月17日 (17.07.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/057245 A1(51) 国際特許分類7: A61K 38/40, 38/16, 9/14, 9/16, 9/20,  
9/48, A61P 1/16, 3/04, 3/06, 3/10, 9/12清水 洋彦 (SHIMIZU, Hirohiko) [JP/JP]; 〒411-0803 静  
岡県 三島市 大場 1086-133 Shizuoka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/13858

(74) 代理人: 杜本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒  
100-0004 東京都 千代田区 大手町二丁目 2番 1号 新大  
手町ビル 206 区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo  
(JP).

(22) 国際出願日: 2002年12月27日 (27.12.2002)

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,  
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,  
NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,  
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU,  
ZA, ZM, ZW.

(25) 国際出願の言語: 日本語

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,  
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,  
GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI 特  
許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,  
NE, SN, TD, TG).

(26) 国際公開の言語: 日本語

添付公開書類:  
— 国際調査報告書(30) 優先権データ:  
特願 2001-4006412文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイドスノート」を参照。

2001年12月28日 (28.12.2001) JP

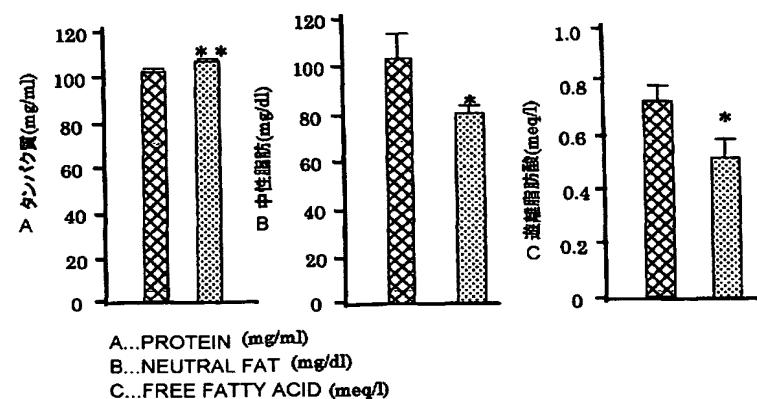
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式  
会社核内受容体研究所 (NUCLEAR RECEPTOR RE-  
SEARCH LIMITED) [JP/JP]; 〒213-0012 神奈川県川  
崎市 高津区 坂戸 3丁目 2番 1号 Kanagawa (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 原田 悅守  
(HARADA, Etsumori) [JP/JP]; 〒680-0941 鳥取県 鳥取  
市 湖山町北 3丁目 251、6-502 Tottori (JP). 竹  
内 崇 (TAKEUCHI, Takashi) [JP/JP]; 〒680-0945 鳥取  
県 鳥取市 湖山町南 3丁目 212-5 Tottori (JP). 安藤  
邦雄 (ANDO, Kunio) [JP/JP]; 〒213-0033 神奈川県川  
崎市 高津区 下作延 1877 番地 26 Kanagawa (JP).

(54) Title: COMPOSITIONS FOR IMPROVING LIPID METABOLISM

(54) 発明の名称: 脂質代謝改善用組成物



II diabetes and so on. These composition can elevate basal metabolic rate.

(57) Abstract: It is intended to provide medicinal compositions which contain as the active ingredient at least one member selected from the group consisting of lactoferrin proteins including lactoferrin and conalbumin and enzymatically digested products of lactoferrin proteins including lactoferricin and peptides of conalbumin corresponding to lactoferricin. These compositions are usable as lipid metabolism improving agents. Moreover, they are useful in treating lifestyle-related diseases such as hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, low-density lipoprotein hypercholesterolemia, high-density lipoprotein hypocholesterolemia, obesity, fat liver, cholesterol cholelithiasis, severe obesity, hyperlipidemia, hypertension, type

[統葉有]



## (57) 要約:

本発明は、ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分とする、医薬組成物を提供する。本発明の組成物は、脂質代謝改善剤として用いることができる。また高コレステロール血症、高中性脂肪血症、高低比重リポタンパクコレステロール血症、低高比重リポタンパクコレステロール血症、肥満、脂肪肝およびコレステロール胆石症、高度肥満、高脂血症、高血圧症、II型糖尿病などの生活習慣病を処置するために有用である。本発明の組成物は、基礎代謝量を向上させうる。

## 明 細 書

## 脂質代謝改善用組成物

5 技術分野

本発明は、ラクトフェリン等を含む、医薬組成物に関する。本発明の組成物は、脂質代謝改善剤として用いることができる。詳細には、本発明の組成物は、高コレステロール血症、高中性脂肪血症、高低比重リポタンパク (LDL) コレステロール血症、低高比重リポタンパク (HDL) コレステロール血症、肥満、脂肪肝およびコレステロール胆石症を処置するため、また、高度肥満、高脂血症、高血圧症、II型糖尿病などの生活習慣病の処置するために有用である。本発明の組成物は、基礎代謝量を向上させうる。

背景技術

15 現代は飽食の時代である。それにともなって肥満が克服しなければならない健康上の重要課題として浮上してきた。米国では小学校児童の約 30%が、標準体重を 30%以上超えた肥満児とされている。さまざまな疫学調査で明らかなように、学齢期の肥満は、その大部分は成人に達した後も進行する。それとともに、三十才後半からの中年の加齢期に標準体重を 30%以上超過する肥満者が続出するので、合計すると欧米における肥満人口は、人類が経験したことのない大きな割合を占めるに至った。欧米ほど顕著ではないが、我が国でも運動不足と飽食による肥満児の増加が大きな問題となってきた。

25 云うまでもなく肥満は、虚血性心疾患、本態性高血圧症、II型糖尿病、ある種のガンを発症させる重要な危険因子であり、高度肥満の低年齢化は、生活習慣病の激増を予告している。また、脂肪肝およびコレステロール胆石症も、肥満および脂質代謝異常を背景とする看過できない疾患である。肥満は生活習慣病の発症を促進するだけでなく、活動を不活発にさせ、社会生活への適応を心理的に難しくする。従って、肥満は経済的および社会的に大きな損失である。肥満者が激

増しつつある諸国では、健康状態を維持しつつ肥満を予防／治療する方法の開発が急務になってきた。

とりわけ、副作用なしに消化管における脂肪吸収を阻害できる薬剤ないし加工食品は、肥満を予防／治療する上で必須である。過食による肥満は血中の低比重リポタンパク (LDL) に含まれるコレステロール濃度を増大させ、逆に血中高比重リポタンパク (HDL) のコレステロール濃度を低下させて動脈硬化発症の引き金になる。従って、副作用の懸念がなく、血中の高比重リポタンパク (HDL) コレステロールを増大させ、逆に低比重リポタンパクコレステロール (LDL) を減少させる薬剤ないし加工食品の開発は、グローバルにもっとも要望されているものの一つである。ハイドロキシ・メチルグルタリル CoA 還元酵素を阻害し、体内のコレステロール合成量を減少させるプラバスタチン、シンバスタチン、アトロバスタチンなどスタチン系薬物が、循環系疾患治療に大きな役割を占めていることからも、肥満、すなわち、脂質代謝異常治療がいかに緊急の問題か明らかである。

肥満の原因は過食である。食欲をコントロールし、ジョギングなどの運動療法を併用して身体のエネルギー消費を増大させれば、理論的には誰でも減量できるはずである。しかし、自らの意思で節食・運動することは、口で言うほど簡単ではなく、節食が可能であっても現実はそれほど単純ではない。小児期に確立した食習慣は、数ある習慣のなかでもっとも変更し難いと云われている。食欲は、手軽に満たすことができる楽しみの一つだからである。さらに、肥満すると熱エネルギーの消費が減少し、その分が体脂肪として貯蔵されるので、肥満は肥満をよぶ悪循環に陥る。節食による減量は、健康上の問題も提起している。摂取エネルギー減少による減量は、減少して欲しい白色脂肪組織だけでなく、実質臓器の重量も同じ割合で減少させるのである。実質臓器の重量減少は免疫能を低下させ、病原ウイルス、病原微生物に対する生体の抵抗性を弱め、風邪などの病気にかかりやすくする。従って、現代で求められるのは、実質臓器の重量減少をともなわず、白色脂肪組織に貯蔵された中性脂肪を選択的に燃焼させる減量法である。

神経中枢に働きかけ節食させる薬剤としては、マジンドール (C. Sirtori et al., Am. J. Med. Sci. 261: 341-7 (1971) ) のように摂食中枢に働きかけ食欲を減退させる薬剤、あるいは興奮剤、アンフェタミン系化合物 (O. J. Kalant, "The 5 Amphetamines: Toxicity and Addiction (Thomas, Springfield, 1966) ) のように強い異化作用を発揮し、身体の構成成分を分解してブドウ糖として供給するため、食欲を減退させる薬剤などが主要なものである。しかし、マジンドールは強い便秘を誘発し、肝障害を起こす副作用がある。また、アンフェタミン系薬剤は習慣性があり、いったん薬物依存症に陥ると抜け出すことは非常に難しいので、10 食欲調節剤としてはまったく使われなくなった。

小腸を外科手術により切り取って短縮し、消化吸収にかかわる小腸粘膜の面積を縮小し、栄養の吸収を制限する治療法も行われている。しかし、いかに肥満あるいは高脂血症を改善するためとは言え、健全な消化管の一部を切り取るのは邪道である。腹部外科手術による病原菌感染症の危険、あるいは加齢につれて小腸短縮による影響が何らかの障害となって表面化してくる可能性があるからである。15

欧米型の食事は、炭水化物を主要なエネルギー源とする日本を含む東アジア型とは異なり、中性脂肪が主要なエネルギー源である。欧米型食物のなかで中性脂肪が摂取カロリー中に占める割合は、地域ごとに若干異なるが 35%から 43%と見積もられている。理想的には摂取エネルギーに占める脂肪の割合は 30%以下が望ましく、さらに、飽和脂肪酸が大部分を占める獣脂と乳脂肪は摂取する脂肪の半分以下、残りは不飽和脂肪酸が多い植物油および魚油として摂取することが推奨されている。しかし、獣脂と乳脂肪を豊富に含む畜肉および乳製品等の食品は、美味であり味覚の満足度が高いので、その摂取を控えることによる飽和脂肪の摂取削減は至難の業である。いずれにせよ西欧型の食事は脂肪が主要なエネルギー源なので、摂取食物に含まれる中性脂肪の消化管吸収を阻害することが、もつとも合理的かつ効果的な予防／治療法である。節食と運動による肥満の予防／治療には限界があるからである。20 25

食事性の中性脂肪とエステル型コレステロールは小腸において胆汁に含まれる胆汁酸、コレステロールおよびタンパク質により表層を被覆され微細なミセルを形成する。膵臓から分泌されるリバーゼがミセル表面に結合して中性脂肪を 2  
5 個の脂肪酸とモノグリセライドに分解し、それらは小腸粘膜から吸収される。従って、小腸管腔でリバーゼと結合し酵素活性を失活させる薬剤は、加水分解される中性脂肪の量を減少させるので、結果的に中性脂肪の消化管吸収を阻害する。一方、中性脂肪ミセル表層が水と接触する界面に作用し、親水性を低下させる物質は、ミセル同士が融合してリバーゼが作用する表面積を縮小させるので、中性  
10 脂肪の加水分解が減少し、その結果、消化管吸収を抑制する。つまり、食事として摂取した中性脂肪の消化管吸収を抑制するには、リバーゼ阻害剤を投与する方法と、リバーゼが作用する中性脂肪のミセル表層面積を減らし、中性脂肪の加水分解を減少させて消化管吸収を低下させる二つの方法がある。

15 前者としては、オルリストット (H. S. Fleury et al., Int. J. Obesity 11  
(Suppl. 3) :35-42 (1987) ) が実用化されている唯一のリバーゼ阻害剤である。オルリストットは高度肥満者の減量を目的とする治療薬として広く使われており、摂取した食事性脂肪の約 30%が吸収を阻害され排泄されると報告されている。しかし、頻繁な下痢、腹部膨満、ガス発生が欠点とされ、さらに全身的な副作用  
20 としては高血圧、肝不全の誘発が報告されている。発売当初は爆発的に普及したが、頻発する副作用のため次第に使われなくなり、現在では使用量が最盛期の 1/3 に減っている。減量を目的としてオルリストットを長期使用する場合、定期的なモニターが必要であり、主として医師の監督のもとで重度の肥満者に使用されている。

25 食事性脂肪のミセル同士を融合させることにより膵リバーゼが作用する面積を減少させ、食事性中性脂肪の吸収を阻害する薬物あるいは加工食品は、まだ広汎に実用化されていない。しかし、小麦胚芽に含まれるタンパクであるピューロチアニン (特開平 4-300839) 、抗生物質であり食品の防腐剤として実用化されて

いる  $\epsilon$ -ポリリジン（特開平 4-221320）、プロタミン、ヒストン、ポリ-L-アルギニン（特開平 3-284627）などの塩基性タンパク質あるいは塩基性ペプタイドは、in vitro で臍リパーゼ活性を阻害し、消化管において脂肪の吸収を阻害する効果を示す。

5

いずれの方法で脂肪の消化管吸収を阻害するにせよ、これらの方法は、それ自身に内包する欠点から免れることは難しい。欠点とは、小腸における消化吸収を免れた中性脂肪が、大量に大腸に流入することである。哺乳類の消化管には多種多様の腸内細菌が生息しており、ヒトの場合には百種を越える腸内細菌が 150 兆個も大腸に生活していると算定されている。大腸に生息する腸内細菌は、小腸における消化過程で消化できなかった食物残渣、あるいは消化吸収を免れたごく少量の栄養物に依存して生活している。つまり、大腸は栄養の供給が乏しい環境であり、貧弱な栄養環境に適応した微生物が生活している。しかも、重要なことは、それらの腸内細菌が宿主と共生関係にあり、大腸が機能を発揮するうえで必須の酪酸を始めとする低級脂肪酸を产生し宿主に供給していることである。しかし、脂肪の吸収が阻害され大腸が栄養的に豊かな環境に変化すると、富栄養化した環境に適応した微生物が爆発的に増殖し、健康維持に必要なビフィズス菌、乳酸菌などを圧倒して増殖する可能性が排除できない。オルリストットを投与した際に認められた下痢、ガス発生、腹部膨満などの副作用は、大腸における腸内細菌叢の変化を反映しているのである。

### 発明の開示

本発明者らは牛乳から得られるラクトフェリンを腸溶性製剤に加工し、健常者ならびに病者に経口投与したところ、脂質代謝が急速かつ有意に改善されることを見いだした。すなわち、ラクトフェリン腸溶製剤を健常者、病者に投与すると、統計的な有意差で、血中コレステロール値と同中性脂肪値の低下、血中 HDL コレステロール値の上昇および同 LDL コレステロール値の低下が起こり、本態性高血圧症、II 型糖尿病などの病態改善が随伴するのである。すなわち、臨床的な脂質代謝改善作用は明らかである。

また、高脂肪飼料を供与した齧歯類動物を使ってラクトフェリンによる脂質代謝改善作用を検討したところ、ヒトの場合と同様の血中脂質の変化に加え、肝臓におけるコレステロールおよび中性脂肪がラクトフェリン投与により有意に減少することを発見した。つまり、ラクトフェリンはヒトおよび齧歯類動物で食事性コレステロールならびに中性脂肪の消化管吸収を阻害することにより、肝臓における脂質蓄積を抑制し、血中脂質のプロファイルを改善させる作用があることが判明したのである。

ラクトフェリンはヒトに経口投与すると、ビフィズス菌を増加させる効果が確認されている（川瀬ら、酪農科学・食品の研究、45巻 A75-81, 1996年）。ラクトフェリンをヒトに経口投与しても、脂肪吸収阻害物質で見られる下痢、ガス発生、腹部膨満感などの副作用はほとんど認められなかった。つまり、ラクトフェリン群タンパク質は、小腸における消化吸収を免れた脂肪が大腸に流入しても、ビフィズス菌などの有用腸内細菌を増殖させて、腸内細菌の菌交代にともなう弊害が起こり難い利点を有しているといえる。このようなことからラクトフェリン群タンパク質は長期にわたり連用可能であると考えられた。

他方、鶏卵は高い栄養価を持つにもかかわらず、卵黄が多量のコレステロールを含むので動脈硬化を誘発すると誤解され、欧米では人気がない食品である。ところが、意外なことに、鶏卵には血液中のコレステロール値を上昇させる作用はほとんどない。例えば、6人の健常ボランティアに毎日10個のゆで卵を連日摂取させた実験結果が発表されているが、1週間以上摂取しても有意な血液中のコレステロール値の上昇は起こらなかった。卵黄はコレステロールとともに、多量の油脂とレシチンを含み、その油脂分は微細なミセルになって容易に水に分散するので、油脂に溶けたコレステロールの消化管吸収は急速なはずである。しかし、大量かつ長期にわたって鶏卵を摂取しても、血中コレステロール値が上昇しない理由は、コレステロールの消化管吸収を妨げる物質が存在するからであろうと考えられた。重要なことは、鶏卵のタンパク質が変性している“ゆで卵”を多

量に摂取した場合でも、血中コレステロール値の上昇の抑制が認められることで、鶏卵に存在するコレステロールの吸収抑制物質は加熱の影響を受けないか、あるいはタンパク質であるとしても、変性後、消化酵素により部分分解されて生ずるペプタイドのなかに活性物質が存在すると考えられた。

5

例えば、養鶏協会は成人の健常ボランティアによる臨床試験で、卵白の投与は血液中の LDL コレステロール値を低下させ、HDL コレステロール値を上昇させたことを報告している。従って、鶏卵中に存在するコレステロール上昇を抑制する物質は、卵白中に存在するものと思われた。岐阜大農学部の長岡らは、齧歯類動物における血液コレステロール低下を指標として卵白を分画したところ、活性を示すのはオボムチンであったと報告している（畜産の情報～調査・報告～2000年8月、月報国内編）。しかし、卵白固形物中のオボムチン含量は4%前後なので、卵白から抽出し製品化するには大きなコストが必要である。また、オボムチンを内服させて、血中脂質の変動をしらべる臨床試験は行われていないので、それがヒトで有効かどうかはわかっていない。

本発明者らはラクトフェリンの脂質代謝改善作用にヒントを得て、卵白を分画し各々の画分を齧歯類動物に経口投与して脂肪吸収と血中脂質に及ぼす影響を検討した。卵白には哺乳類のラクトフェリンに相当するコンアルブミンが含まれ、その含有率はオボアルブミンに次ぎ10%内外を占めるからである。コンアルブミンが鳥類で哺乳類のラクトフェリンに相当するタンパク質であることは、結晶のX線回折により解明された構造（H. Kurokawa et al., J. Biol. Chem. 274:28445-28452, 1999）をラクトフェリンと対比すれば明らかである。実験の結果、本発明者らは予想のとおり鳥類のラクトフェリンであるコンアルブミンが食事性脂肪の吸収を抑制し、ラクトフェリンと同様に血中脂質のプロファイルを改善することを発見した。

このような知見に基づき、本発明者らは、ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、またはラクトフェリシンおよびコンアル

5 プミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物の少なくとも一つを有効成分とする、脂質代謝改善用組成物、並びにラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、またはラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペ  
10 プタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物の少なくとも一つを有効成分とする、高コレステロール血症、高中性脂肪血症、高低比重リポタンパク (LDL) コリステロール血症、低高比重リポタンパク (HDL) コリステロール血症、肥満、脂肪肝およびコレステロール胆石症からなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を処置するための組成物を完成させた。本発明の組成物は、高度肥満、高脂血症、高血圧症、II型糖尿病などの生活習慣病治療に有効である。

#### 図面の簡単な説明

15 図1は、ラクトフェリン投与による血液中のタンパク質濃度の上昇と、中性脂肪値および遊離脂肪酸値の低下とを示したグラフである（実施例1）。左側の格子バーは対照群、右側の点線バーはラクトフェリン群である。棒は標準偏差を示す（それぞれn=8）。\*\*P<0.01, in Student's t-test

20 図2は、ラクトフェリン投与によるマウス血中コレステロールの変化を示したグラフである（実施例1）。左側の格子バーは対照群、右側の点線バーはラクトフェリン群である。棒は標準偏差を示す（それぞれn=8）。\*\*P<0.01, in Student's t-test

25 図3は、マウス血中のHDLコレステロール値/総コレステロール値の比を示したグラフである（実施例1）。左側の格子バーは対照群、右側の点線バーはラクトフェリン群である。棒は標準偏差を示す（それぞれn=8）。\*\*P<0.05, in Student's t-test

図4は、ラクトフェリンによる肝臓の脂質含量の変化を示したグラフである（実施例2）。左側の格子バーは対照群、右側の点線バーはラクトフェリン群。棒は標準偏差を示す（それぞれn=8）。\*P<0.05, \*\*P<0.01, in Student's t-test

図5は、ラクトフェリン腸溶錠の中性脂肪値に与える効果を示したグラフで

ある（実施例 3）。●および○はラクトフェリン腸溶錠を内服した場合、⊗は内服しなかった場合を示す。

図 6 は、ラクトフェリン腸溶錠の総コレステロール値に与える効果を示したグラフである（実施例 4）。P<0.01 in Student's paired t-test

5 図 7 は、ラクトフェリン腸溶錠のウエスト（胴囲）および体重に与える効果を示したグラフである。

図 8～11 は、ラクトフェリン腸溶錠の中性脂肪値および総コレステロール値に与える効果を示したグラフである（実施例 5～8）。

10 図 12 は、ラクトフェリン腸溶錠の中性脂肪値および総コレステロール値に与える効果を詳細に示したグラフである（実施例 9）。●は、飲酒した翌朝の中性脂肪の測定値を示す。

図 13A は、ラクトフェリン腸溶錠を経口投与した場合の血中のラクトフェリン濃度を示したグラフである（実施例 10）。

15 図 13B は、血中のラクトフェリン濃度を測定した際の、ラクトフェリン腸溶錠の投与および血液採取スケジュールを表した図である。

図 14A は、ラクトフェリン服用群、図 14B はコントロール群について、起床時体温と昼食 1 時間後の体温とを測定した結果を示したグラフである（実施例 11）。

## 20 発明の詳細な説明

本発明の組成物は、ラクトフェリン群タンパク質、またはラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物の少なくとも一つを有効成分とする。本明細書でいう「ラクトフェリン群タンパク質」には、ラクトフェリンおよびコンアルブミンが含まれ、「ラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物」には、ラクトフェリン群タンパク質のラクトフェリシンに相当するペプタイドが含まれる。

25 本発明の組成物には、経口投与した場合に、脂質代謝改善作用、基礎代謝量向上作用を発揮する限り、いかなるラクトフェリン群タンパク質およびラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物をも用いることができる。ラクトフェリンは分子

量が 8 万程度の高分子であり 2 個の 3 値鉄イオンとキレートをつくる性質があるが、本明細書でいう「ラクトフェリン」には、鉄イオンフリーの型から完全に鉄イオンが飽和された型の全てが含まれ、また由来を問わず、ヒト、ウシ、組み換え型等、あらゆるラクトフェリンが含まれる。

5

本発明の組成物は、ラクトフェリンおよびコンアルブミンの 1 種類のみを含んでいても、または 2 種類を含んでいてもよい。

本発明の組成物は経口投与されるものである。その形態は、医薬組成物であつ 10 てもよく、食品、飲料、ドリンク剤の形態であつてもよい。本発明の組成物は、 経口投与に便利な剤形、例えば粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の 形態であることが好ましい。

本発明の組成物を製剤化する際に用いる賦形剤としては、乳糖、蔗糖、グルコ 15 ース、ソルビトール、ラクチトールなどの单糖ないし二糖類、コーンスター、 ポテトスターののような澱粉類、結晶セルロース、無機物としては軽質シリカゲ ル、合成珪酸アルミニウム、メタ珪酸アルミニ酸マグネシウム、リン酸水素カル シウムなどがある。ただし、還元性の单糖類および二糖類は、有効成分のラクト フェリン群タンパク質（またはラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物）の ε 20 -アミノ基とアミノカルボニル反応をおこし、変性させるおそれがある。特に、 水分や鉄イオンの存在下では、急速なアミノカルボニル反応が進行するおそれが ある。

本発明の組成物を製剤化する際に用いる賦形剤としては、崩壊剤としては澱粉 25 類、カルボキシメチルセルロース（CMC）、ヒドロキシプロピルセルロース （HPC）、カルボキシメチルセルロース・ナトリウム塩、ポリビニルピロリド ンなどがある。滑沢剤としては蔗糖脂肪酸エステル、ステアリン酸カルシウム、 ステアリン酸マグネシウムなどを使用することができる

本発明の組成物は、単独で投与しても、他の薬剤と併用してもよい。また、本発明の組成物を食品や飼料中に添加して投与することもできる。

本発明の組成物は、乾燥状態で製剤化することが好ましい。代表的な本発明の組成物の有効成分であるラクトフェリン（以下、ラクトフェリンを中心に説明することがあるが、他の有効成分を用いる場合にも同様のことがいえる。）は、高温・多湿では不安定だからである。詳細には、ラクトフェリンのアミノ基と賦形剤等に存在する還元基との間ではアミノーカルボニル反応が生じうる。これはさらに多段階を経て、不可逆的に反応物の重合による褐色色素の形成に至る（褐変反応）。酸化を触媒する物質の存在や、高温は、この反応を促進する。すなわち、ラクトフェリンを製剤化する際、水が存在するとラクトフェリンに含まれる  $Fe^{3+}$ などの影響で、アミノーカルボニル反応が促進されうる。また打錠による発熱もまた、この反応を一層促進する。よって、薬理効果の維持された安定なラクトフェリン製剤を得るために、製剤化はできるだけ乾燥状態で行うのがよい。

15 ラクトフェリン粉末は通常、非常に比重が軽いためにそのまま打錠できないことから、より薬理効果の維持された安定な製剤である本発明の組成物を得るには、例えば、有効成分と賦形剤、結合剤、崩壊剤を混合し、混合物をスラグマシンで強圧成型し薄い大きな平たい円盤をつくり、それを碎いて篩過し、一定の大きさの顆粒をそろえる。そして錠剤とする場合には、顆粒に滑沢剤を加えて打錠し、錠剤を所望によりコーティング皮膜で覆って製品化するのがよい。また、カプセル剤とする場合には、顆粒の一定量をカプセルに充填して、カプセル剤とするのがよい。

本発明の組成物は、腸溶性の製剤とすることが好ましい。本発明者らは、先にした国際出願 PCT/JP01/10212 (WO02/41912) で詳述しているように、腸管粘膜上にはラクトフェリン・センサーともいるべき構造が存在するとの仮説を有しており、他方、ラクトフェリンが、ペプシンに対して感受性は強いが他のプロテーゼに対しては著しく抵抗性であるとの知見を有している。すなわち、腸管粘

膜上に作用部位が存在し、かつペプシンに対して高感受性であるラクトフェリンにおいては、腸溶性の製剤とすることに特に技術的意義を有する。

腸溶性とするには、胃液に対しては抵抗性があり、小腸内で溶解する基剤、例  
5 えばシェラック、ツエイン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース・フタレート、  
カルボキシメチルエチルセルロース、酢酸フタル酸セルロース、メタクリル酸コ  
ポリマー、水に不溶のエチルセルロースおよびアミノアルキルメタアクリレート  
コポリマーからなる群より選択される基剤を主成分とする皮膜で、腸溶性のカプ  
セルに有効成分を含む顆粒を充填するか、または有効成分を含む顆粒に滑沢剤を  
10 加えて打錠して得た錠剤をコーティングするとよい。

特に本発明者らは、ラクトフェリン腸溶錠を内服した者の血液中に、ラクトフェリンを確認した。このような知見は既存のラクトフェリン製剤では得られてこなかつた。ラクトフェリンを有効成分とする腸溶性製剤の形態であるものは、本  
15 発明の好ましい実施態様の一つである。さらに、乾燥状態で製剤化され、かつラクトフェリンを有効成分とする腸溶性製剤の形態であるものは、本発明の特に好ましい実施態様の一つである。

ラクトフェリン腸溶錠の投与および血液採取は、次のスケジュールで行った。  
20 すなわち、7:00 に朝食を採った後、9:30 少し前にラクトフェリン投与前の血液採取し (Pre サンプル) 、9:30 にラクトフェリン腸溶錠 (製造例 5) を投与した後、13:30 および 17:30 に血液採取した (それぞれ、4hr および 8hr サンプル) (図 12B) 。

製造された組成物が、腸溶性であるか否かは、塩化ナトリウム2.0gに希塩酸2 4ml及び水を加えて溶かし、1000mlとした第一液 (pH1.2, 日本薬局方・一般試験法41) 及び0.2Mリン酸2水素カリウム試液250mlに0.2N水酸化ナトリウム試液118ml及び水を加えて1000mlとした第二液 (pH6.8) を用いて崩壊性を試験することにより、確認することができる。第一液に120分間浸しても崩壊せず、

第二液中では60分間浸すと崩壊する錠剤または顆粒は、胃では溶解せず、十二指腸に流入して始めて崩壊し、有効成分が溶出されるものであり、腸溶性であると判断することができる。

本発明の組成物は、血中の脂質プロファイル改善する効果を発揮しうる。そのため、本発明の組成物は、高コレステロール血症、高中性脂肪血症、高低比重リポタンパク (LDL) コレステロール血症、低高比重リポタンパク (HDL) コレステロール血症の処置のために用いることができる。

また、本発明の組成物は、肥満、脂肪肝およびコレステロール胆石症を処置するためにも用いられる。

さらに、本発明の組成物は、ラクトフェリン等の有効成分が食事性脂質の消化管吸収を阻害することにより、脂質代謝を改善すると考えられ、ひいては摂取エネルギーを減少させることによる減量効果を発揮しうる。したがって、肥満、並びに高脂血症、高血圧症およびII型糖尿病等の生活習慣病を処置するために有用である。

さらに、本発明の組成物は、基礎代謝量を向上させうる。例えば、起床時体温を上昇させ、および/または起床時体温と活動時の体温（例えば、起床後数時間後の体温、食事1時間後の体温）との差を増大させうる。基礎代謝量とは、目覚めている状態で生命を維持するために必要な最小限のエネルギー消費のことであるが、加齢とともに基礎代謝は下がりはじめ、ビタミン類、タンパク質が不足しているとき、気温の高いとき、睡眠中にも基礎代謝は下がる。同性・同年齢ならば、その体表面積に比例することが知られており、同じ体重なら体脂肪が多く、筋肉の割り合いの少ない者ほど基礎代謝は低い。したがって、肥満者は概して、そうでない者より基礎代謝量が劣っている。本発明の組成物は、肥満者等の基礎代謝の改善のためにも用いられる。

本発明の有効成分は、下部消化管のビフィズス菌および乳酸菌を増加しうるの  
で、放屁、下痢、腹部膨満などの副作用をともなわざ投与することができる。

本発明の組成物は、一般的には、有効成分として一日当たり約 0.1mg～約  
5 50,000mg、好ましくは約 0.5mg～約 10,000mg を、最も好ましくは約 10mg～  
約 2,000mg を、一度にまたは分割して、本発明の組成物による処置が必要とさ  
れている患者に対し、食前、食事後、食間および／または就寝前等に投与するこ  
とができる。投与量は、個別に、投与される患者の年齢、体重、および投与目的  
に応じて定めることもできる。

10 以下に、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明はそれに限定され  
るものではない。

<製造例 1>

15 ラクトフェリン 1 部と馬鈴薯澱粉 1 部をよく混合し、水を使用することなく  
スラグマシンで円盤状に圧縮し、円盤を粉碎して 16 メッシュの篩を通過する顆  
粒を集めて日本薬局方 1 号のハードカプセルに 150mg ずつ充填した。

<製造例 2>

20 ラクトフェリン 5.5kg、乳糖 8kg、結晶セルロース 10kg、カルボキシメチル  
セルロース・カルシウム 1kg、グリセリン脂肪酸エステル 0.5kg を混合し、実施  
例 1 のように乾式で顆粒化した後、ラクトフェリンを 1 錠中に 50mg 含む直径  
8mm、重量平均 250mg の錠剤に加圧成型した。

25 <製造例 3>

コンアルブミン 6kg、コーンスターーチ 10kg、ハイドロキシプロピルセルロー  
ス 8.8kg、ステアリン酸マグネシウム 0.2kg を混合し、実施例 1 のように乾式で  
顆粒化した後、コンアルブミンを 1 錠中に 50mg 含む直径 8mm、重量平均  
250mg の錠剤に加圧成型した。

## &lt;製造例 4&gt;

卵白の噴霧乾燥末（コンアルブミン含量 8.4%）10kg、ポテトスター<sup>チ</sup> 10kg、シリカゲル 0.5kg を乾燥状態で混合し、実施例 2 と同様に加圧成型した後、円盤を粉碎して粒径 0.1mm 以下の粒子を集め、加圧圧縮して直径 10mm、重量平均 800mg の錠剤に加工した。

## &lt;製造例 5（ラクトフェリン腸溶錠の製造）&gt;

ラクトフェリン 5.5kg、乳糖 8kg、結晶セルロース 10kg、カルボキシメチルセルロース・カルシウム 1kg、グリセリン脂肪酸エステル 0.5kg を混合し、実施例 1 のように乾式で顆粒化した後、ラクトフェリンを 1 錠中に 50mg 含む直径 8mm、重量平均 250mg の錠剤に加圧成型した。この錠剤を、コーティング機（フロイント産業（株）製、ハイコーティング HCT-48N）に入れ、セラック 30 部、ヒマシ油 7 部をイソプロパノール 63 部に熔解した液を計算量だけ噴霧し、対錠剤重量比で 10% の腸溶性コーティングを施した錠剤を製造した。

## &lt;実施例 1&gt;

5 週令の ICR 系雄性マウス 16 頭を無作為に 8 頭ずつの 2 群に分け、対照群をラット・マウス用標準飼料（日本クレア製、CE-2）で飼育し、その他の群は CE-2 に 1% のラクトフェリン（ニュージーランド、タツア・ミルク・バイオロジクス社製、純度 84%）を添加して 4 週間飼育した。この間、3 日ごと測定した体重は、対照群と比ベラクトフェリン群が若干上回る速度で増加したが、両群の間に有意差はなかった。また、4 週後の剖検時において秤量した肝臓、脾臓、脾臓、小腸、盲腸、内臓脂肪および副睾丸脂肪組織等の重量についても有意差はなかった。さらに、単位体重あたりの体長および腸の長さにも両群の間に有意差はなかった。

血中成分について測定したところ、ラクトフェリンの経口投与により、血中中性脂肪値は 20.8% (P<0.05) (図 1B)、血中遊離脂肪酸値は 27.9% (P<0.05)

(図 1C)、それぞれ有意に低下し、血液中の総タンパク質濃度は逆に 5.8% (P<0.01) 上昇した (図 1A)。次に血中コレステロール値を定量したところ、ラクトフェリン群は対照群と比べ血中総コレステロール値は上昇傾向が認められたが、その上昇は HDL コレステロールが 34.5% 上昇した (P<0.01) ためである 5 ことが明らかになった (図 2)。血中 HDL コレステロール値の上昇は、HDL コレステロール値/総コレステロール値の比がラクトフェリン投与により 7.1% 有意に上昇している (P<0.05) ことからも明らかである (図 3)。

ラクトフェリンは分子量が 8 万ダルトン弱の高分子であり、消化管からはほとんどの吸収されないと考えられてきた。しかし、経口投与すると、本実施例に示すように血中タンパク濃度の上昇、血中中性脂肪値と遊離脂肪酸値の低下、さらに HDL コレステロールを上昇させる作用を示した (図 1、2 および 3)。

吸収されないとすると、消化管内で脂質の吸収を阻害している可能性がもっとも強い。そこで吸収された食事性脂肪が貯蔵される場である肝臓の脂質を測定した。

4 週後にマウスから摘出した肝臓は、2.5M 蔗糖含有リン酸緩衝液 (pH7.4) でホモジナイズし、磨碎物にクロロフォルム：メタノール (2:1) の混合溶媒を加えて脂質を抽出して、コレステロールと中性脂肪を測定した。ラクトフェリンを 1% 標準飼料 CE-2 に添加することにより、対照群と比べ肝臓のコレステロール含量は 21.7% (P<0.01)、中性脂肪含量は 41.8% (P<0.05) 減少した (図 20 4)。つまり、ラクトフェリンによる血中脂質プロファイルの改善作用は、ラクトフェリンが消化管における食事性脂肪の吸収を阻害することによりもたらされ 25 ると推測された。ラクトフェリンが食事性脂質の消化管吸収を阻害することにより、脂質代謝を改善し、ひいては摂取エネルギーを減少させることによる減量効果を示すことは従来知られておらず、本発明者らが初めて明らかにした事実である。

## &lt;実施例 2&gt;

42 歳の男性が、大量飲酒（ウイスキー500ml 程度）後、ラクトフェリン腸溶錠（製造例 5）を、9錠、3分割で（すなわち、一日あたり 9錠を均等に 3分割して、起床時、昼食前および就寝前に）内服した。

5 飲酒後 2 日目には、中性脂肪値が正常域またはその近くにまで下がった。服用しなかった場合は、飲酒後 7 日目でも 200mg/dl を超えたままであった（図 5）。

## &lt;実施例 3&gt;

10 総コレステロール値の高い 8 名が、それぞれ、ラクトフェリン腸溶錠（製造例 5）を、一日あたり 9錠、3分割で、継続して内服した。

約 1 ヶ月には、8名のうち総コレステロール値が正常値より高めであった 6 名では総コレステロール値が低下したが（P<0.01 in Student's t-test）、正常域にあった 2 名には総コレステロール値の変動は認められなかった（図 6）。このことからラクトフェリンはヒトにとって不要なコレステロールのみを低下させると考察される。なお血液採取は定時（午前 11 時頃）に行った。

## &lt;実施例 4&gt;

20 女性の健常者 12 名が、1 日 3錠～9錠のラクトフェリン腸溶錠（製造例 5）を、約 1 ヶ月～2 ヶ月、継続して内服した。この間、特に食事・運動の指導は行わなかった。

ほとんどの者でウエスト（胴囲）の減少および体重の減少が診られた（図 7）。

## &lt;実施例 5&gt;

25 37 歳の男性の飲酒家（毎日ビール大瓶 1 本、ウイスキーダブル 1 杯）が、ラクトフェリン腸溶錠（製造例 5）を内服した。当初、9錠、3分割で内服したが、眠くて仕事ができず、2 日目から就寝前 3錠に変更した。

8 日目に測定したところ、中性脂肪値は有意に低下していた。14 日目には総コレステロール値も減少した（図 8）。この男性は、メバロチンを以前から服用

していたが、総コレステロール値が 210mg/dl まで低下したのは初めてであった。この間、食生活に特に変化はなかった。なお血液採取は昼食前に行った。

#### ＜実施例 6＞

5 中性脂肪値および総コレステロール値の高い 43 歳の女性が、ラクトフェリン腸溶錠（製造例 5）を、1 日目および 2 日目は 9錠、3 分割で、3 日目は 3錠を就寝前に、4 日目以降は 6錠を 3錠ずつ起床時および就寝前に内服した。  
12 日目には総コレステロール値が 231mg/dl に減少した（図 9）。また体重は 2kg 減少した。この間、食生活に特に変化はなかった。血液採取は午前 10 時～  
10 11 時の間にに行った。

#### ＜実施例 7＞

41 歳の女性は、高トリグリセライド（TG）血症のため、リパンチルを数ヶ月服用していた。しかしながら、肝機能障害が出現したため、リパンチル服用を中止し、6 日間強力ミノファーゲンの静注を施行した。肝機能はおちついてきたが、  
15 中性脂肪値は再度上昇し始めた。

ラクトフェリン腸溶錠（製造例 5）の服用（9錠、3 分割）を開始したところ、  
20 当初 183mg/dl であった中性脂肪値が、翌日には 153mg/dl に低下した。またリパンチルを服用しないと 200mg/dl 以下にならなかった総コレステロール値が、  
7 日目には 122 mg/dl に低下した（図 10）。この間、食生活に特に変化はなかった。血液採取は午前 9 時～10 時の間にに行った。

#### ＜実施例 8＞

特に肥満のない 65 歳の女性がラクトフェリン腸溶錠を内服した。  
25 この女性は、総コレステロール値のみ 250mg/dl 以上という高値を示していたが、最近は加齢に伴い中性脂肪もやや高かった。メバロチンを服用することにより総コレステロール値は低下するが、足がつる等の副作用のため、服用できなかつた。

ラクトフェリン腸溶錠（製造例 5）の服用（9錠、3 分割）を開始したところ、

10 日目に総コレステロール値は 240mg/dl 台となった（図 11）。この間、食生活に変化はなかった。血液採取は午前 10 時～11 時の間に行った。

#### ＜実施例9＞

5 42歳の男性の飲酒家（平均すると3から4日に1回、ウイスキーを200～300ml 程度）が、ラクトフェリン腸溶錠（製造例5）を、1日あたり9錠、3分割して内服した。

10 1日に3回程度、採血して血中の中性脂肪値及び総コレステロール値を測定したところ、明らかな総コレステロール値の低下が認められ、また、中性脂肪値は、日間変動はあるが（食事により変動）、全体として減少する傾向が診られた（図 12）。なお、飲酒した翌朝の中性脂肪値（図12中では●で表されている。）は高いが、飲酒を中断した後は速やかに低下した。

#### ＜実施例 10＞

15 ラクトフェリン腸溶錠を経口投与した場合の血中のラクトフェリン濃度を抗ウシラクトフェリン抗体を用いる ELISA 法により測定した。

##### [ELISA法によるラクトフェリン測定]

20 1. 96穴平底マイクロプレート（NUNC社製）に0.05M炭酸緩衝液（pH9.6）で 500倍（2  $\mu$ g/ml）に希釈した抗ウシラクトフェリン抗体（Goat, anti-bovine LF affinity purified, Bethyl Lab.社製）を100  $\mu$ l/well入れ、4℃で一晩吸着させた。

25 2. プレートを0.05%Tween20-リン酸緩衝液（PBS）にて3回洗浄した。ブロッキング剤として、1.3%ゼラチン含有PBSを300  $\mu$ l入れ、室温で30分間インキュベートした。

3. プレートを0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄し、0.05%Tween20、0.5M NaCl及び1%ウシ血清アルブミン（BSA）を含むPBS（以下、NB-PBS）にて希釈したスタンダードあるいはサンプルを100  $\mu$ l/well入れ、4℃で8時間反応させた。

4. プレートを0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄し、NB-PBSにて1,000倍に希

釀した抗ウシラクトフェリン抗体 (Rabbit, anti-bovine LF, IgG grade, ヤガイ社製) を  $100 \mu\text{l}/\text{well}$  入れ、4°Cで8時間反応させた。

5 5. プレートを0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄し、NB-PBSにて5,000倍に希釀したペルオキシダーゼ標識抗ウサギIgG抗体 (Goat, anti-rabbit IgG, American Quail International社製) を  $100 \mu\text{l}/\text{well}$  入れ、4°Cで8時間反応させた。

10 6. プレートを0.05%Tween20-PBSにて3回洗浄した。さらに、基質溶液としてリン酸塩緩衝液に溶解した2,2-azino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) Diammonium salt (1.18mM, 三光純薬社製) を  $100 \mu\text{l}/\text{well}$  入れ、37°Cで1時間反応させた。

15 7. マイクロプレートリーダー (Sunrise Series, Type Classic, チカン社製) にて、波長 405nm の吸光度を測定し、スタンダードで作成した検量線によりラクトフェリン濃度を算出した。

15 体重 60kg の男性にラクトフェリン腸溶錠 (製造例 5) を 18錠 (900mg / 60kg = 15mg/kg) 投与したところ、4hr 後および8hr 後に採取した血液中には、ラクトフェリンが確認された (図 13A)。

20 ラクトフェリン腸溶錠の投与および血液採取は、次のスケジュールで行った。すなわち、7:00 に朝食を採った後、9:30 少し前にラクトフェリン投与前の血液採取し (Pre サンプル) 、9:30 にラクトフェリン腸溶錠 (製造例 5) を投与した後、13:30 および 17:30 に血液採取した (それぞれ、4hr および 8hr サンプル) (図 13B)。

#### <実施例 11>

25 12名からなるラクトフェリン腸溶錠 (製造例 5) 服用群と、31名からなるコントロール群について、起床時体温と昼食 1 時間後の体温とを測定した。

ラクトフェリン服用群 (図 14A) はコントロール群 (図 14B) に比較し、起床時 ( $P<0.05$  in Student's unpaired t-test) および昼食 1 時間後 ( $P<0.01$  in Student's unpaired t-test) の体温はラクトフェリン服用群がいずれも有意に高

かった。ラクトフェリン服用群はコントロール群に比較して基礎代謝量が上昇しているものと考察された。

## 請 求 の 範 囲

1. ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分とする、脂質代謝改善用組成物。

2. ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分とする、高コレステロール血症、高中性脂肪血症、高低比重リポタンパクコレステロール血症、低高比重リポタンパクコレステロール血症、肥満、脂肪肝およびコレステロール胆石症からなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を処置するための組成物。

3. ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分とする、基礎代謝量の改善が有効とされる疾患又は状態を処置するための組成物。

4. 請求項1～3のいずれ1項に記載された組成物であって：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により、混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
所望により、混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する  
ことを含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、前記組成物。

5. 腸溶性製剤の形態である、請求項1～4のいずれか1項に記載の組成物。
6. 有効成分を含む顆粒を打錠したものを、胃液に対しては抵抗性があり、小腸  
5 内で溶解する基剤を主成分とする皮膜でコーティングしてなる、請求項1～4の  
いずれか1項に記載の組成物。
7. 有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,00  
0mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与するための、請求項1～6のい  
10 ずれか1項に記載の組成物。
8. 以下の工程を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の組成物の製造方法：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微  
15 粒状物または顆粒とし；そして  
混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する  
ことを含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル  
剤の形態である、前記組成物。
- 20 9. 脂質代謝改善用医薬の製造における、ラクトフェリンおよびコンアルブミン  
を含むラクトフェリン群タンパク質、並びにラクトフェリシンおよびコンアルブ  
ミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク  
質の酵素分解物からなる群より選択される少なくとも1種の有効成分としての使  
用。
- 25 10. 高コレステロール血症、高中性脂肪血症、高低比重リポタンパクコレステロ  
ール血症、低高比重リポタンパクコレステロール血症、肥満、脂肪肝およびコレ  
ステロール胆石症からなる群より選択される少なくとも一つの疾患または状態を  
処置するための医薬の製造における、ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含

むラクトフェリン群タンパク質、並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択される少なくとも1種の有効成分としての使用。

5 11. 基礎代謝量の改善が有効とされる疾患又は状態を処置するための医薬の製造における、ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペプタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択される少なくとも1種の有効成分としての使用。

10

12. 医薬が：

有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして

15 混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填することを含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項9～11のいずれか1項に記載された使用。

20 13. 医薬が、腸溶性製剤の形態である、請求項9～12のいずれか1項に記載の使

用。

14. 医薬が、有効成分を含む顆粒を打錠したものを、胃液に対しては抵抗性があり、小腸内で溶解する基剤を主成分とする皮膜でコーティングしてなる、請求項9～12のいずれか1項に記載の使用。

25

15. 医薬が、有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,000mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与するための、請求項9～14のいずれか1項に記載の使用。

16. 医薬が、以下を含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項9～15のいずれか1項に記載の使用：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微  
5 粒状物または顆粒とし；そして  
混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する。

17. ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、  
並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペ  
10 プタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択さ  
れる少なくとも1種を有効成分を用いる、脂質代謝改善方法。

18. ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、  
並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペ  
15 プタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択さ  
れる少なくとも1種を有効成分として用いる、高コレステロール血症、高中性脂  
肪血症、高低比重リポタンパクコレステロール血症、低高比重リポタンパクコレ  
20 ステロール血症、肥満、脂肪肝およびコレステロール胆石症からなる群より選択  
される少なくとも一つの疾患または状態の処置方法。

19. ラクトフェリンおよびコンアルブミンを含むラクトフェリン群タンパク質、  
並びにラクトフェリシンおよびコンアルブミンのラクトフェリシンに相当するペ  
25 プタイドを含むラクトフェリン群タンパク質の酵素分解物からなる群より選択さ  
れる少なくとも1種を有効成分として用いる、使用基礎代謝量の改善が有効とさ  
れる疾患又は状態の処置方法。

20. 有効成分を、以下の工程により選られうる粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態で用いる、請求項17～19のいずれか1項に記載された方法：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；

所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する。

5 21. 有効成分が、腸溶性製剤の形態である、請求項20に記載の方法。

22. 有効成分が、有効成分を含む顆粒を打錠したものを、胃液に対しては抵抗性があり、小腸内で溶解する基剤を主成分とする皮膜でコーティングしてなる、請求項20に記載の方法。

10 23. 有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,000mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与する、請求項21に記載の方法。

15 24. 有効成分を一日当たり約0.1mg～約50,000mg、好ましくは約0.5mg～約10,000mgを、最も好ましくは約10mg～約2,000mg投与する、請求項22に記載の方法。

20 25. 有効成分が、以下を含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項21に記載の方法：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微粒状物または顆粒とし；そして  
混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する。

25 26. 有効成分が、以下を含む工程により得られうる、粉末剤、散剤、顆粒剤、錠剤またはカプセル剤の形態である、請求項22に記載の方法：  
有効成分および医薬として許容される添加剤を乾燥状態で混合し；  
所望により混合物を乾燥状態で強圧成型し、次いで成型物を一定の大きさの微

粒状物または顆粒とし；そして  
混合物、微粒状物または顆粒を打錠するかもしくはカプセルに充填する。

図 1

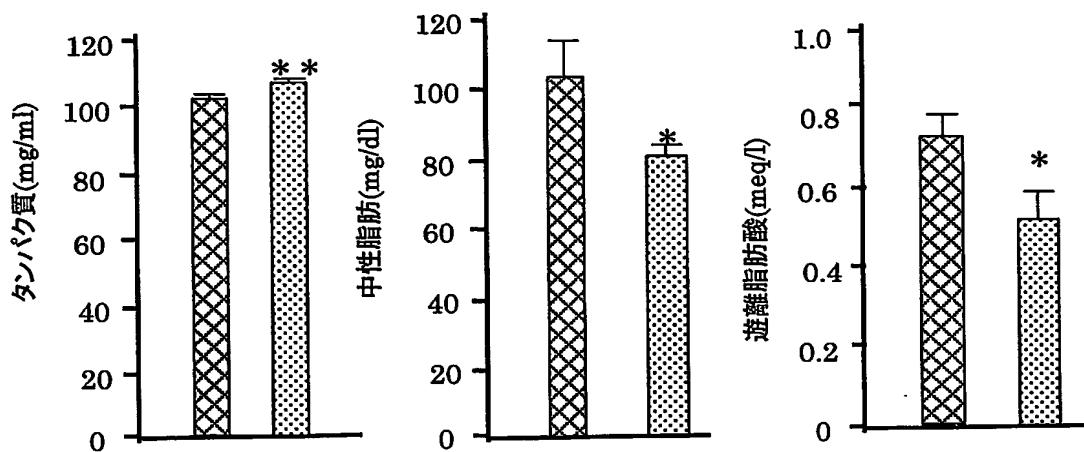


図2

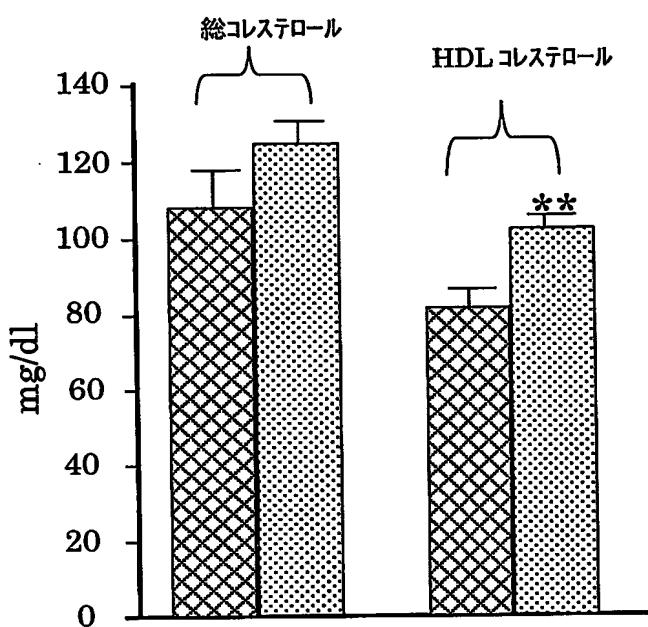


図3

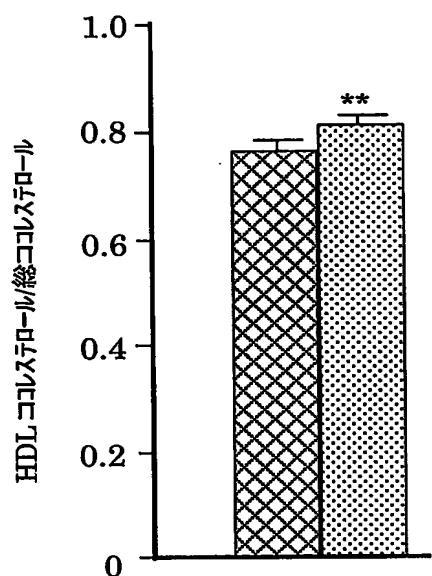


図4

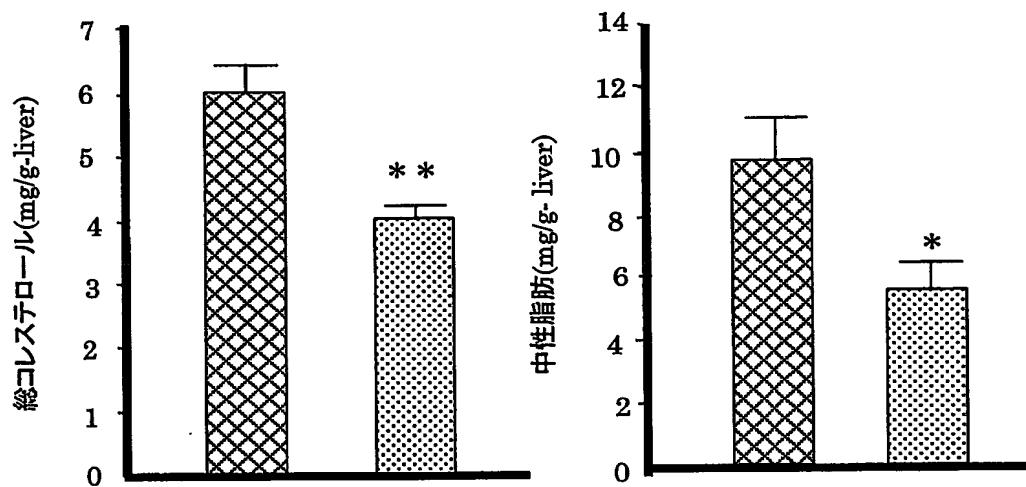


図5

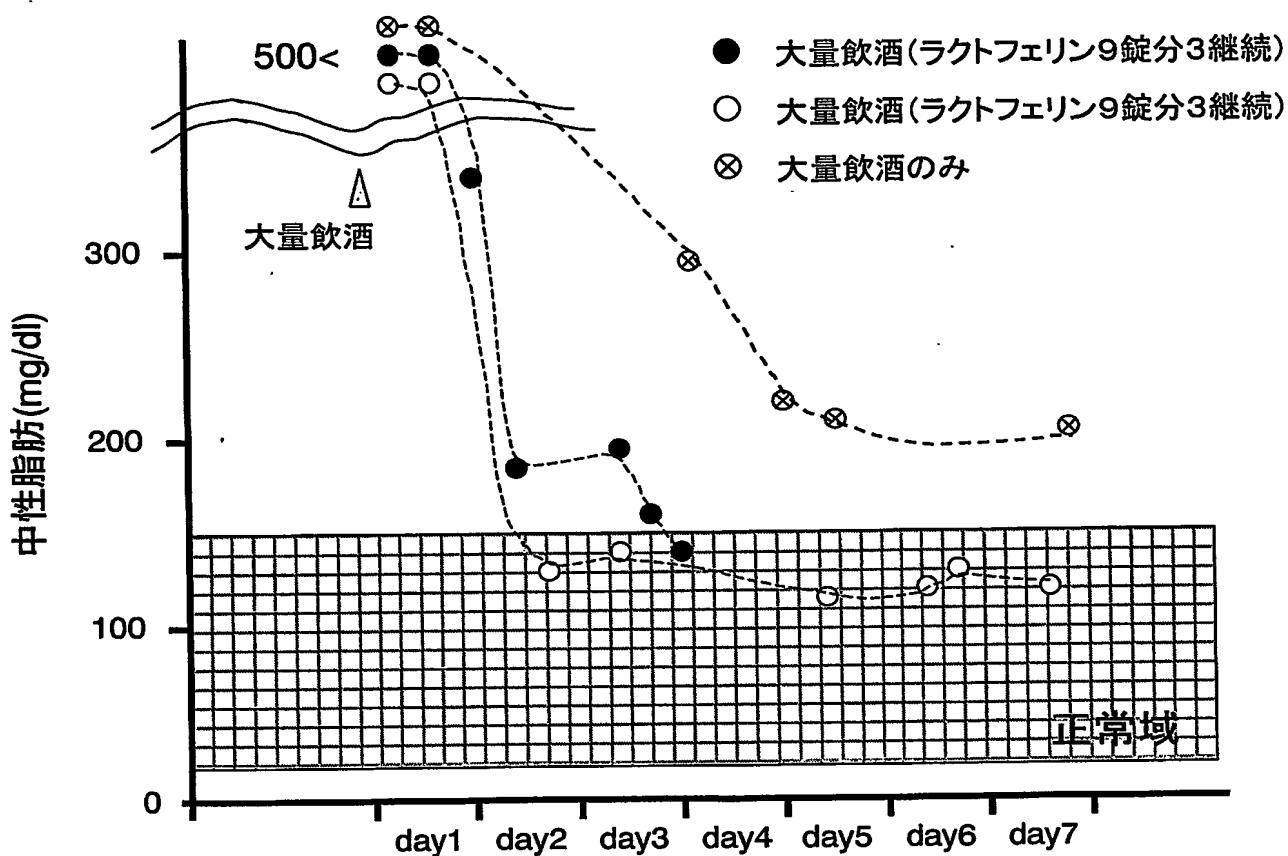


図6

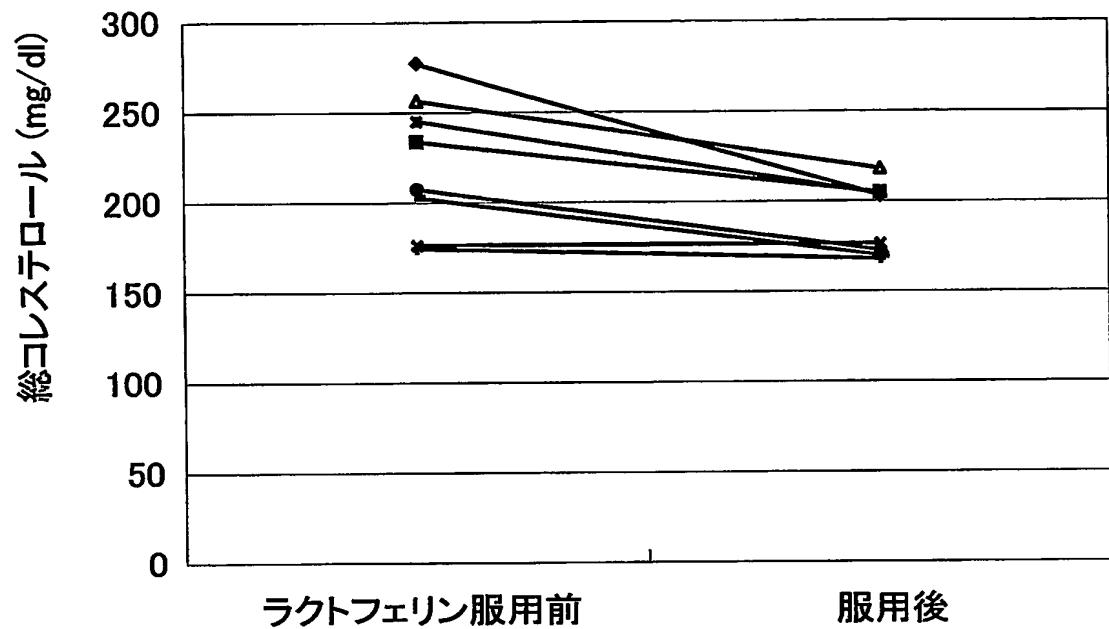


図7

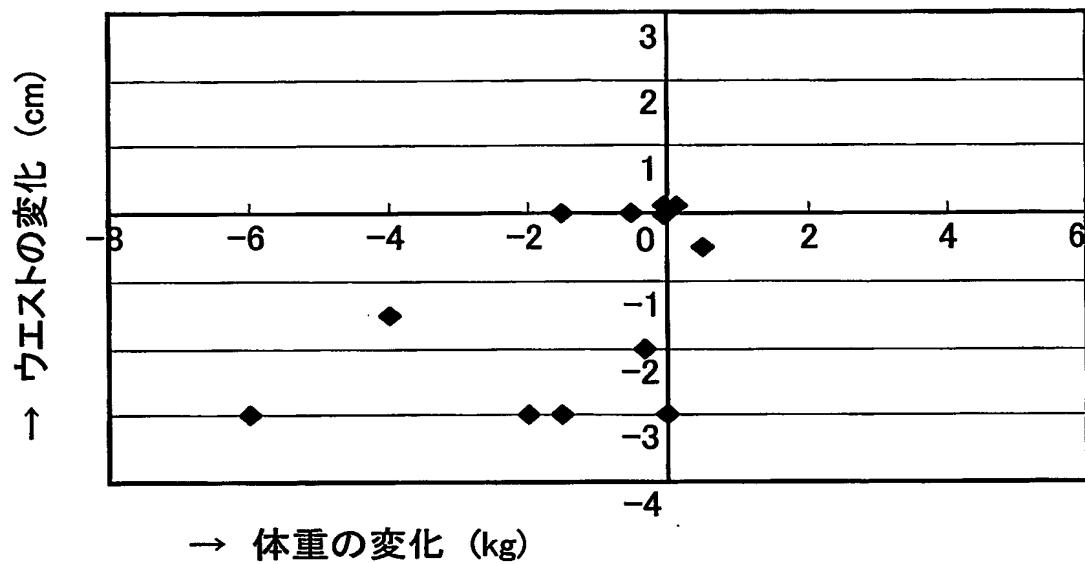


図8

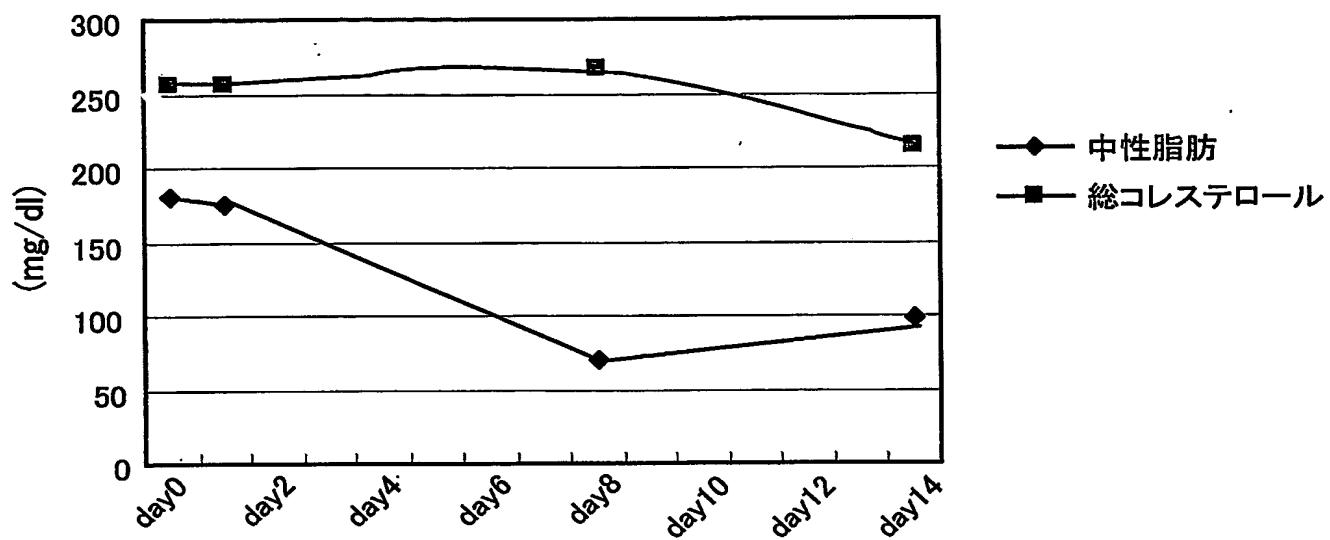


図9

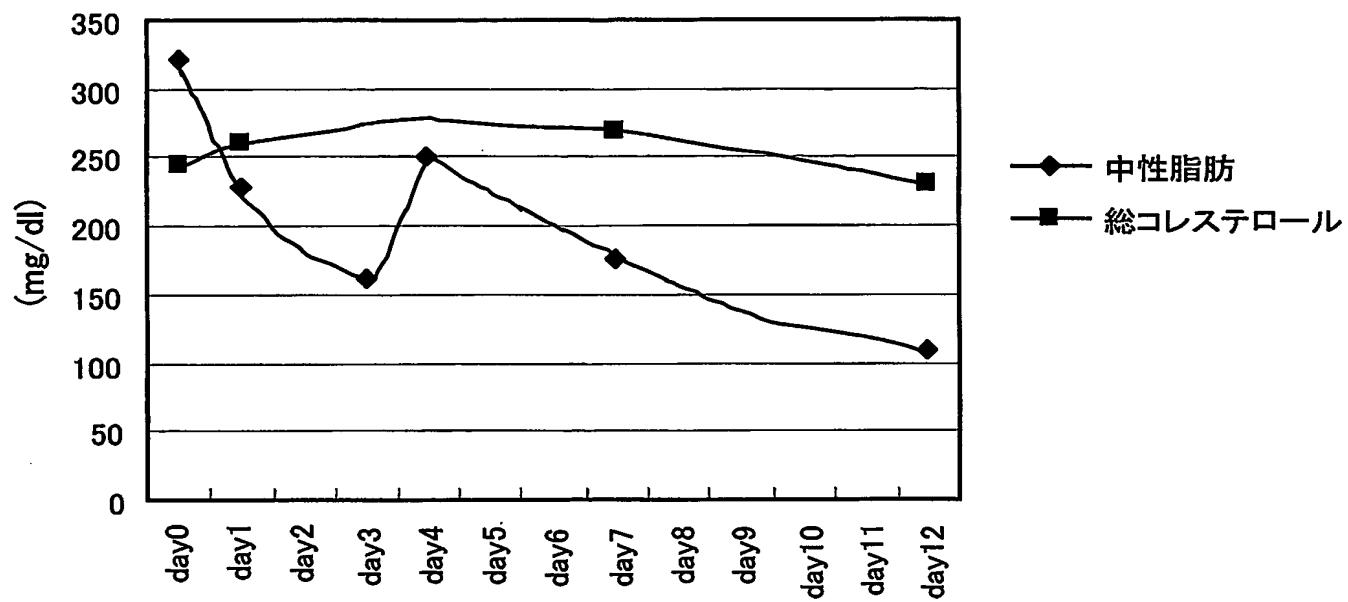


図10

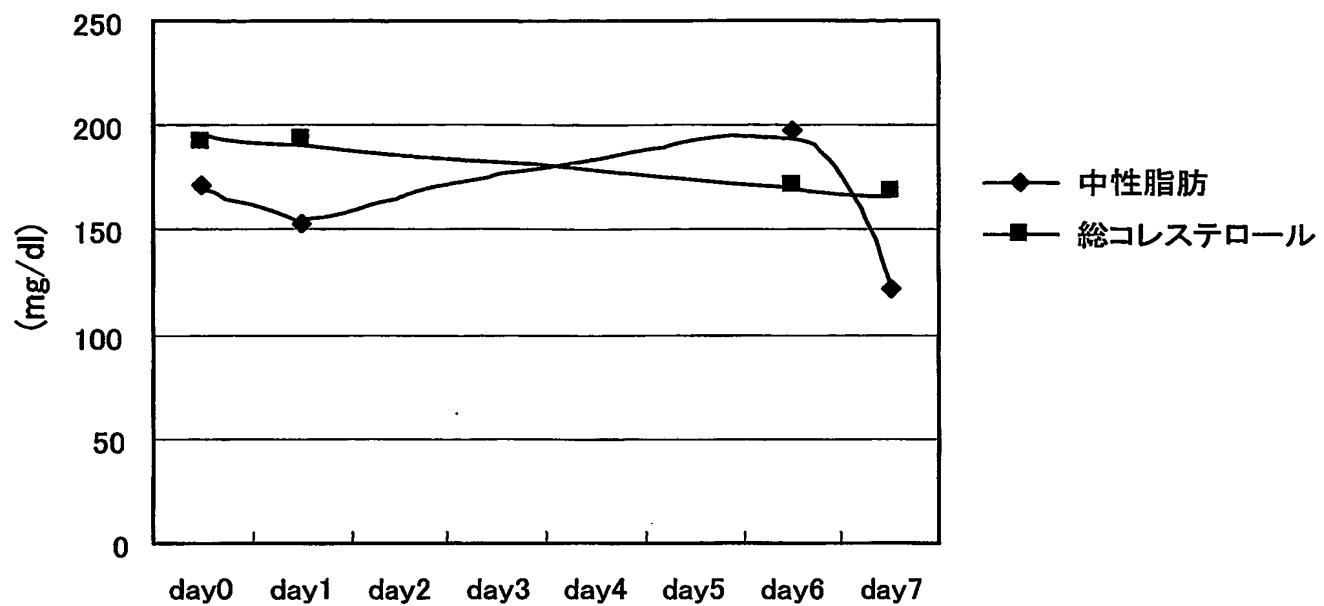


図11

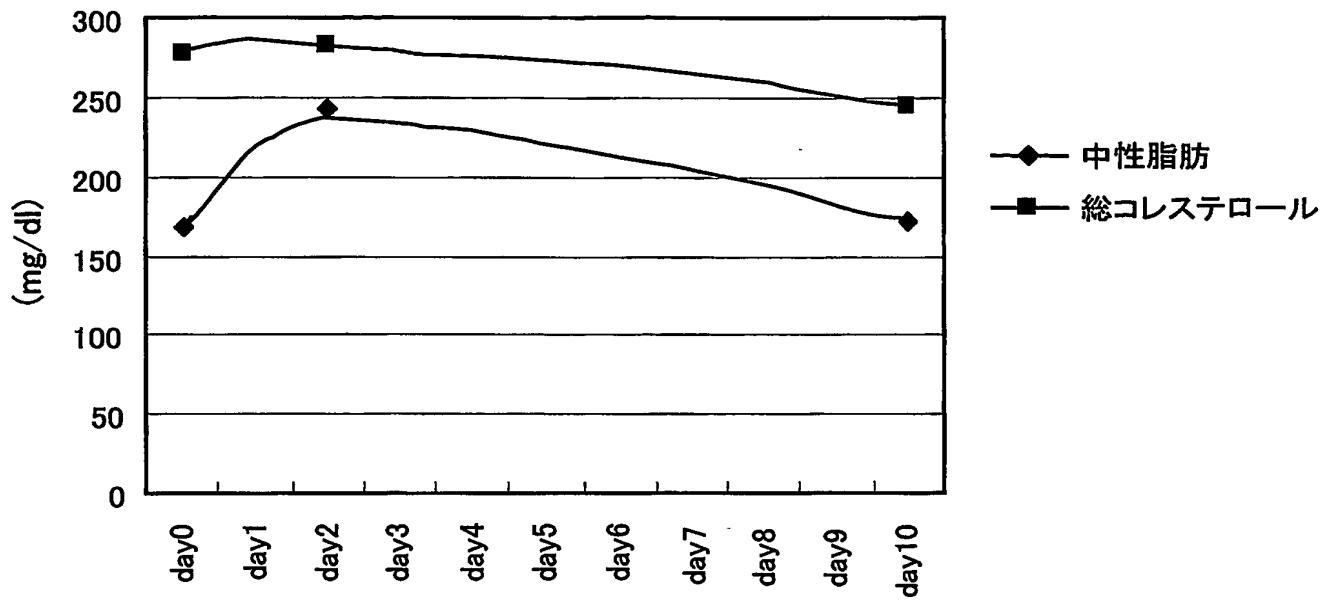


図12

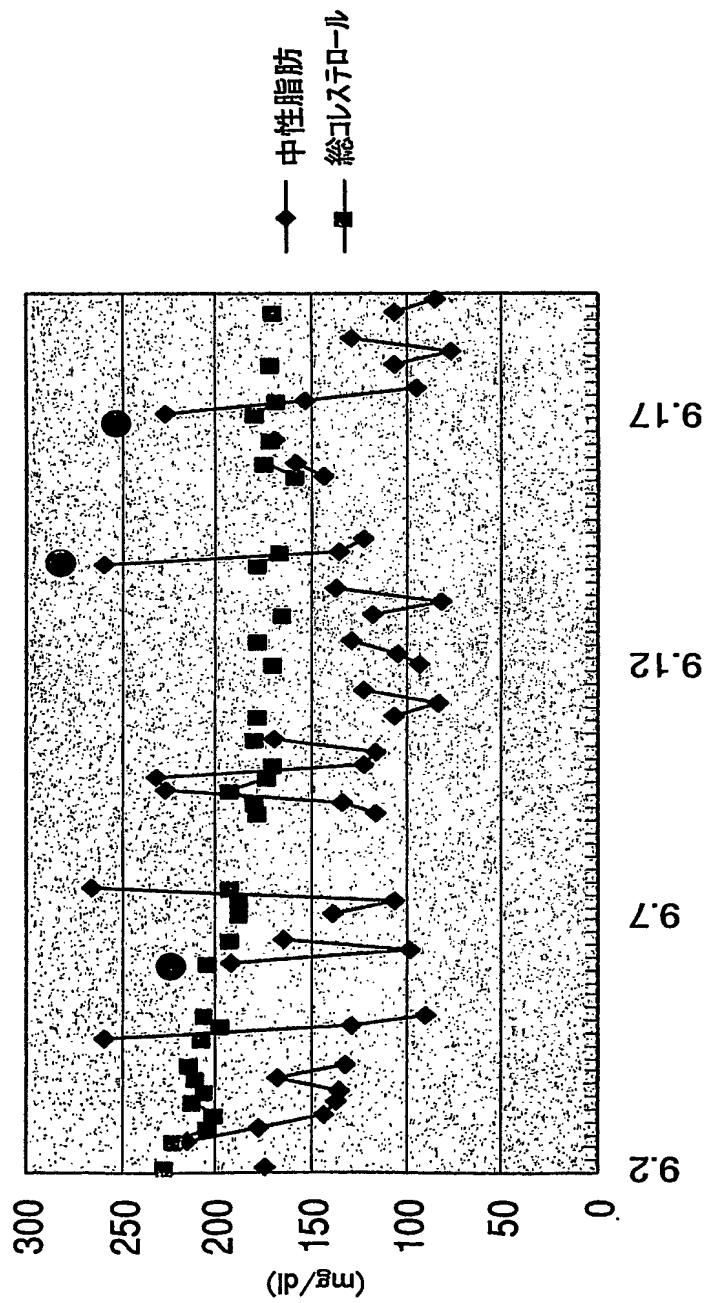


図13A

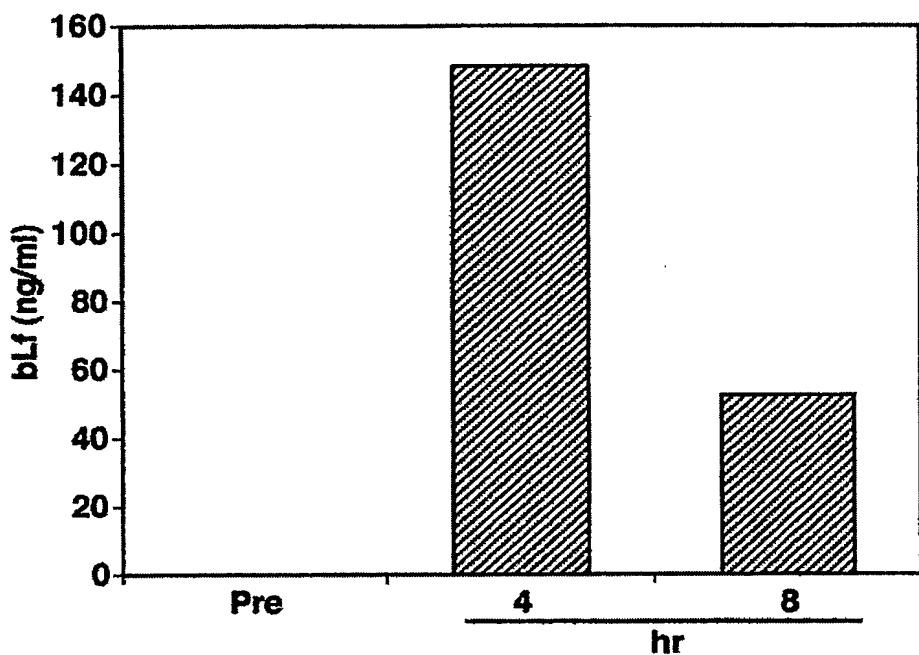


図13B

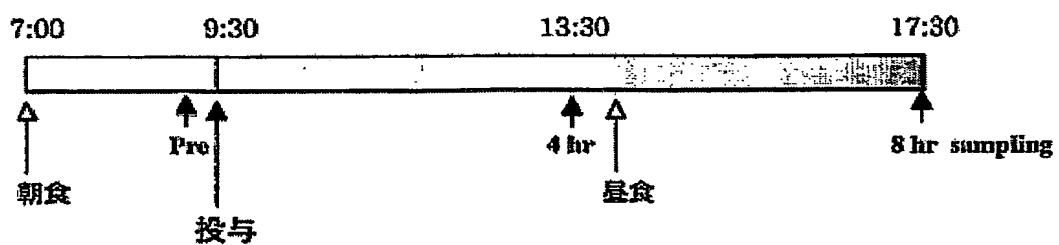
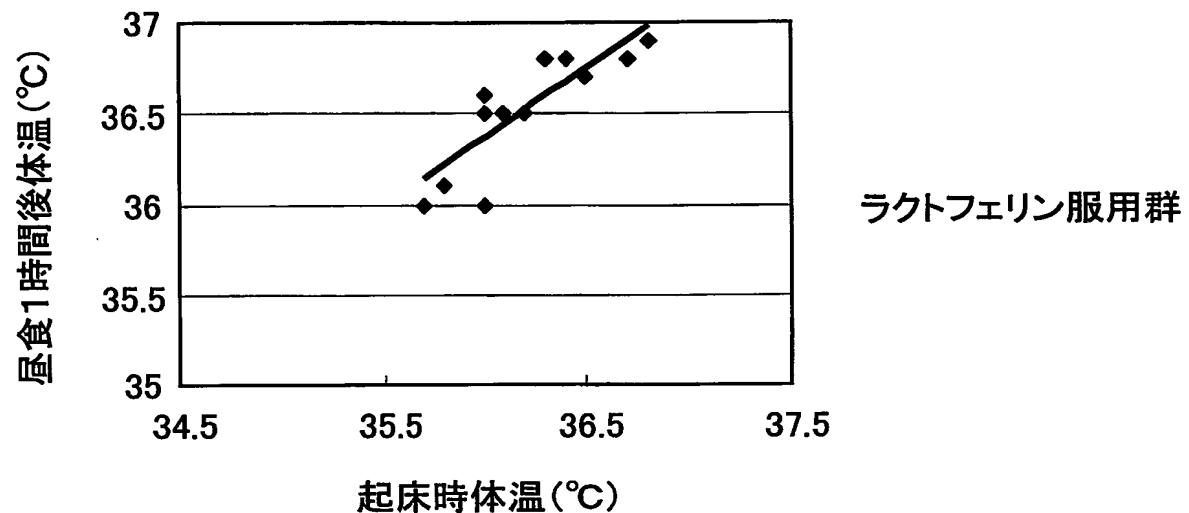
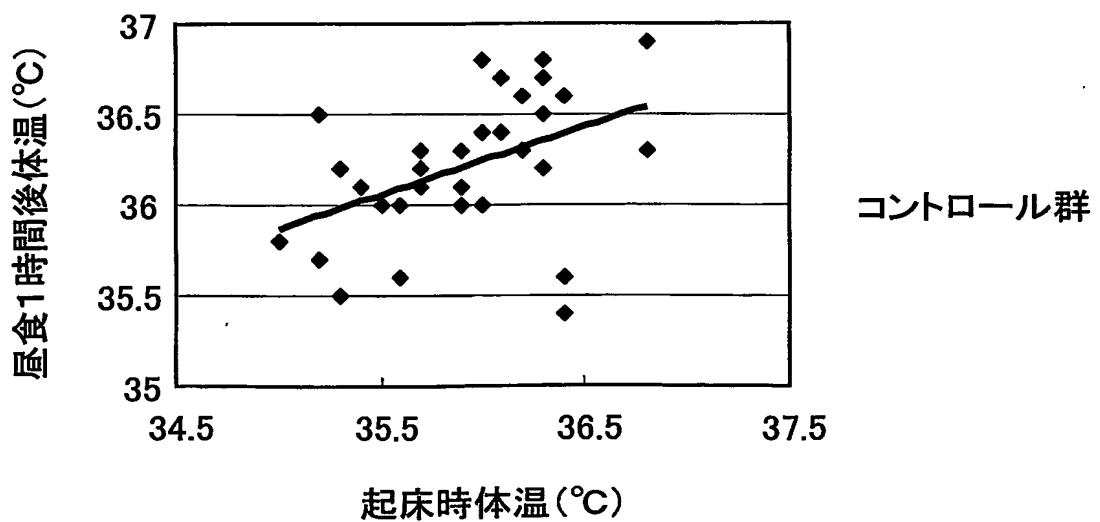


図14A



ラクトフェリン服用群

図14B



コントロール群

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/13858

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl' A61K38/40, 38/16, 9/14, 9/16, 9/20, 9/48, A61P1/16, 3/04,  
3/06, 3/10, 9/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl' A61K38/00-38/58, 39/395, A61K9/00-9/72, 47/00-47/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2002
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2002	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2002

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN), WPI/L (QUESTEL), JICST FILE (JOIS)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 05-176713 A (Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), 20 July, 1993 (20.07.93), Full text; particularly, Claim 1 (Family: none)	1-3, 7, 9-11, 15
Y	JP 2000-325046 A (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 28 November, 2000 (28.11.00), Claim 1; Par. No. [0011] (Family: none)	4-6, 8, 12-14, 16
X	JP 2001-048808 A (Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), 20 February, 2001 (20.02.01), Column 11; example 3 (Family: none)	2, 3, 7, 10, 11, 15
Y		4-6, 8, 12-14, 16

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
27 March, 2003 (27.03.03)

Date of mailing of the international search report  
15 April, 2003 (15.04.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/13858

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 00/22909 A2 (BIOTECH AUSTRALIA PTY. LTD.), 27 April, 2000 (27.04.00), Abstract; Claim 32 & AU 200010712 A	5, 6, 13, 14
Y	WO 91/04015 A1 (BUKH MEDITEC A/S), 04 April, 1991 (04.04.91), Claim 45; page 27 & JP 5-500668 A & AU 9065051 A & US 5213808 A & EP 493513 B1 & DE 69009769 E & JP 2927950 B2	5, 6, 13, 14
Y	WO 98/44940 A1 (AGENNIX, INC.), 15 October, 1998 (15.10.98), Claim 1; page 17, lines 16 to 17 & AU 9869647 A & EP 979099 A1 & CN 1262625 A & MX 9909240 A1 & JP 2001-519815 A & NZ 500712 A	5, 6, 13, 14
Y	EP 955058 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.), 10 November, 1999 (10.11.99), Test; examples & WO 98/30235 A1 & KR 2000070051 A & US 6319895 B1	4, 8, 12, 16
A	JP 2000-198739 A (Tokiwa Chemical Industries, Ltd.), 18 July, 2000 (18.07.00), Par. No. [0002] (Family: none)	3

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP02/13858

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 17-26

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 17 to 26 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2) (a) (i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2.  Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3.  Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

## &lt;Concerning clearness of invention&gt;

## (1) Claims 1 to 16

Although the expression "lactoferrin proteins" is given in claims 1 to 16, lactoferrin and conalbumin are exclusively cited as specific examples of the lactofreein proteins in the description. Moreover, it is not clearly defined what compounds correspond to the "lactoferrin proteins". Even though the common technical knowledge is taken into consideration, a person skilled in the art cannot clearly understand what specific compounds other than lactoferrin and conalbumin belongs to the category of the lactoferrin proteins. Thus, claims 1 to 16 fail to fulfill the requirement of clearness of invention in the meaning as described in PCT Article 6.

## (2) Claim 8

Based on claim 8, it cannot be clearly understood whether the invention according to this claim is an invention of a production process or an invention of a composition. Thus, claim 8 fails to fulfill the requirement of clearness of invention in the meaning as described in PCT Article 6.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1<sup>7</sup> A61K38/40, 38/16, 9/14, 9/16, 9/20, 9/48,  
A61P1/16, 3/04, 3/06, 3/10, 9/12

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1<sup>7</sup> A61K38/00-38/58, 39/395,  
A61K9/00-9/72, 47/00-47/48

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2002年
日本国実用新案登録公報	1996-2002年
日本国登録実用新案公報	1994-2002年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE(STN),  
WPI/L(QUESTEL), JICSTファイル(JOIS)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 05-176713 A (森永乳業株式会社) 1993.07.20, 全文、特に請求項1参照 (ファミリーなし)	1-3, 7, 9-11, 15
Y		4-6, 8, 12-14, 16
X	JP 2000-325046 A (明治乳業株式会社) 2000.11.28, 請求項1、【0011】段落参照 (ファミリーなし)	2, 3, 7, 10, 11, 15
Y		4-6, 8, 12-14, 16

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27.03.03

国際調査報告の発送日

15.04.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

岡崎 美穂



4C 3039

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
Y	JP 2001-048808 A (森永乳業株式会社) 2001.02.20, 第11欄実施例3参照 (ファミリーなし)	4-6, 8, 12-14, 16
Y	WO 00/22909 A2 (BIOTECH AUSTRALIA PTY. LIMITED) 2000.04.27, Abstract, Claim32参照 & AU 200010712 A	5, 6, 13, 14
Y	WO 91/04015 A1 (BUKH MEDITEC A/S) 1991.04.04, Claim45, P. 27参照 & JP 5-500668 A & AU 9065051 A & US 5213808 A & EP 493513 B1 & DE 69009769 E & JP 2927950 B2	5. 6. 13. 14
Y	WO 98/44940 A1 (AGENNIX, INC.) 1998.10.15, CLAIM1、第17頁第16-17行参照 & AU 9869647 A & EP 979099 A1 & CN 1262625 A & MX 9909240 A1 & JP 2001-519815 A & NZ 500712 A	5. 6. 13. 14
Y	EP 955058 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 1999.11.10, Test, Example参照 & WO 98/30235 A1 & KR 2000070051 A & US 6319895 B1	4, 8, 12, 16
A	JP 2000-198739 A (常盤薬品工業株式会社) 2000.07.18, 【0002】段落参照 (ファミリーなし)	3

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求の範囲 17-26 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、

請求の範囲 17-26 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。

2.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。

2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## &lt;発明の明確性について&gt;

## (1) 請求の範囲 1-16

請求の範囲 1-16 には、「ラクトフェリン群タンパク質」とあるが、明細書において、ラクトフェリン群タンパク質として具体的に例示されているのはラクトフェリン及びコンアルブミンのみであり、どのような化合物が「ラクトフェリン群タンパク質」に相当するかについての定義も明確に記載されていない。そして、技術常識を参照しても、ラクトフェリンとコンアルブミン以外に、具体的にどのような化合物がラクトフェリン群タンパク質に含有されるのかを、当業者といえども明確に把握することができないことから、請求の範囲 1-16 は PCT 6 条における明確性の要件を欠いている。

## (2) 請求の範囲 8

請求の範囲 8 の記載では、該請求項に係る発明が製造方法の発明であるのか、組成物の発明であるのかを明確に把握することができない。よって、請求の範囲 8 は PCT 6 条における明確性の要件を欠いている。